

⑫ 公開特許公報(A) 昭61-215947

⑪ Int. Cl.⁴G 01 N 21/03
33/543

識別記号

庁内整理番号

7458-2G
H-7906-2G

⑬ 公開 昭和61年(1986)9月25日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑭ 発明の名称 マイクロタイター用マイクロプレート

⑮ 特 願 昭60-57881

⑯ 出 願 昭60(1985)3月22日

⑰ 発 明 者 斎 藤 智 雄 東京都新宿区下落合4丁目6番7号 富士レビオ株式会社
内⑰ 発 明 者 桜 林 恭 輔 東京都新宿区下落合4丁目6番7号 富士レビオ株式会社
内⑰ 発 明 者 鈴 木 紀 尋 東京都新宿区下落合4丁目6番7号 富士レビオ株式会社
内⑰ 発 明 者 横 山 則 夫 東京都新宿区下落合4丁目6番7号 富士レビオ株式会社
内

⑰ 出 願 人 富士レビオ株式会社 東京都新宿区下落合4丁目6番7号

⑰ 代 理 人 弁理士 田中 政浩

明 細 書

1 発明の名称

マイクロタイター用マイクロプレート

2 特許請求の範囲

(1) 複数列から成る多数のウェルが形成され、かつ該各ウェルは他のウェルからの光の影響を受けない光学的に独立に形成されていることを特徴とするマイクロタイター用マイクロプレート

(2) ウェルは、不透明材料で形成されて光学的に独立に構成されている特許請求の範囲第1項記載のマイクロタイター用マイクロプレート

(3) ウェルは、その内側面及び外側面の少なくとも一方に不透明部材層が形成されて光学的に独立に構成されている特許請求の範囲第1項記載のマイクロタイター用マイクロプレート

(4) 不透明部材層は、不透明着色物を塗装して形成されている特許請求の範囲第3項記載のマイクロタイター用マイクロプレート

(5) 不透明部材層は、反射板を密着して形成されている特許請求の範囲第3項記載のマイクロ

タイター用マイクロプレート

(6) 不透明部材層は、不透明材料を密着して形成されている特許請求の範囲第3項記載のマイクロタイター用マイクロプレート

3 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、マイクロタイター法において用いられるマイクロプレートに関するものである。

(従来の技術)

マイクロプレートを用いた微量測定法すなわちマイクロタイター法はASO価測定(抗ストレプトリジンO価測定)、TPHA(Treponema Palladium 感作血球凝集反応)、ウィルス血清学的検査、あるいはEIA(Enzyme Immuns Assay)におけるELISA法(Enzymelinked Immuns Soybent Assay)等に広く用いられている。

このマイクロタイター法に用いられるマイクロプレートには種々のデザインのものがあるが、従来、いずれも光透過性材料で構成されていた。例えば、第13図の部分断面図に示すように、マイ

クロプレート21は、透明プラスチックでウェル22が一体に形成されて構成されていた。なお、23はマイクロプレート21が載置される白色反射板である。

そして、このようなマイクロプレート21において、各ウェル22に分注された希釈液24の粒子凝集を判定するには、一般に第14図に示すような目視台25を用い、乳白板26を介して均一となった光源27からの光のウェル22の透過光を目視観察することにより行っていた。

(発明が解決しようとする問題点)

しかし、前記従来のマイクロプレート21は、透明に形成されているため、その上方及び下方から希釈液の凝集状態を観察できるという利点はあるが、同時に以下に述べるような問題点が存在した。

即ち、第1に、マイクロプレート21の各ウェル22は透明であるため、ウェル22への入射光は、第13図に示すように複雑な屈折をしてウェル22の外部に出る。そして、反射板23、ウェ

ル22の外側面等で反射をした後再びウェル22に入射し、この入射光が希釈液24を透過して上方から出る透過光となる。従ってマイクロプレート21の中央部では周囲から光が集中して来るために明るくなり、周縁部では光が集中せずかつ側面から外部へ逃げるため暗くなった。

第2に、マイクロプレート21の各ウェル22は透明であるため、各ウェル22はウェル22相互の屈折光の影響を受け隣接する周囲のウェル22の希釈液24の状態により明るさが変化する。即ち、周囲のウェル22が暗いときの中央のウェル22の明るさは、周囲のウェル22が明るいときの中央のウェル22の明るさより暗くなった。

以上のように、従来のマイクロプレート21は透明に形成されていたため、即ち、各ウェル22が光学的に独立してないため、希釈液24の凝集状態と希釈液24の明るさが対応せず、正確な凝集状態の判定ができなかった。

ところでELISA法においては各ウェル22内の溶液の着色の度合を直接測定するが各ウェル22

でも再現性に欠ける等の欠点があった。

一方熟練者の目視判定と全く同じことを機器化することは高級なコンピューターを用いてもなお難しいし、経済的にも極めて高価となり実用性に乏しい。即ち、従来のマイクロプレートは透明であるため、正確に凝集状態を判定するには、多数の判定因子を設定しなければならず、機器による自動判定ができなかった。従って機器による自動判定においては、判定の因子を凝集に関してのみ対応が良く、凝集以外の因子の影響を受けないような条件設定に限定する必要があった。

本発明は、以上の点に鑑み、ウェルの底部に生じた粒子の凝集状態の判定が正確にでき、かつ機器による正確な自動判定の実用化も図り得るようにしたマイクロタイター用マイクロプレートを提供することを目的とする。

(問題点を解決するための手段)

本発明は、上記目的を達成するために、マイクロプレートの各ウェルを光学的に独立して形成して、他のウェルからの影響を受けないようにし、

の光学的環境が異なるためこれを消去する目的で空プレートあるいは蒸留水を入れたプレートを測定し、各ウェル22の明るさをあらかじめ記憶しておき、これを検体測定の結果から差引き、より正確な検体濃度測定を行なおうとする方法が実用化されていた。しかし、このような方法では、隣接する周囲のウェル22の影響を解消することはできなかった。

また、目視判定においては、ウェル22内の粒子の分布をある輝度以下の部分の面積としてとらえる。標準凝集パターン、標準非凝集パターンと比較する。隣接するウェル22との関連を考慮する等の判断を総合的に組合せ凝集の有無を判定している。このため目視判定には熟練を要するものであり、逆に高度な判定が可能で前記問題点はある程度解決されていた。

しかしながら、ある程度解決されたとしても完全に解決されたものでなく、未だ正確な判定は困難であった。さらに、目視という感覚的な試験方法は判定者による個人差があり、かつ同一判定者

ウェルの明るさと凝集状態を対応させて正確な判定ができるようにしたものである。すなわち、複数列から成る多数のウェルが形成され、かつ各ウェルは他のウェルからの光の影響を受けない光学的に独立に形成されていることを特徴とするマイクロタイター用マイクロプレートである。各ウェルが光学的に独立に形成するには、他のウェルから入射してくる光を途中で遮断してウェル内に入射させない構造とする。例えば、ウェル自体を着色剤を混入したプラスチック等の不透明材料で形成する構造、ウェルの内側面及び外側面の少なくとも一方に、不透明部材層を形成する構造等である。前記不透明材料で形成する場合が、マイクロプレートの製造の容易さ等から最も好ましい。また、前記不透明部材層は、遮光性があればよく、例えば、不透明着色物を塗装して形成し、反射板を密着して形成し、または不透明材料を密着して形成する。

また、前記不透明材料、不透明着色物は遮光性があれば、白色、黄色等その色は問わない。白色

と光を吸収しない部分を通過する光のコントラストが強調される。

(実施例)

以下、本発明のマイクロタイター用マイクロプレートの一実施例を第1図に基づいて説明する。

第1図は、マイクロプレート1の部分断面図であり、このマイクロプレート1には希釈液2が充填されるウェル3が多数形成されている。そして、このマイクロプレート1は不透明材料で一体に形成されており、各ウェル3は光学的に独立となっている。

なお、4はマイクロプレート置台である。

第2図はマイクロプレート1の他の実施例の部分断面図である。この例は、透明材料で一体に形成されたマイクロプレート本体5の上側表面に不透明着色物6が塗装されて各ウェル3が光学的に独立となっている。

第3図もマイクロプレート1の他の実施例の部分断面図である。この例は、透明材料で一体に形成されたマイクロプレート本体5の下側表面に反

射板7が密着形成されて各ウェル3が光学的に独立となっている。

(作用)

本発明のマイクロタイター用マイクロプレートでは、上方よりウェルの希釈液に入射した光は、ウェルの内側面また外側面で反射され、ウェルの外部へ透過することなく再び希釈液を透過して上方へ出る。従って各ウェルは他のウェルへ光を入射させないとともに、たとえ他のウェル又は他の原因で光が入射して来たとしても外側面又は内側面で遮断し、ウェル内部の明るさは影響を受けない。また、希釈液への入射光は、粒子を通過するときに吸収を受けつつ進んだ後、ウェルの内側面または外側面で反射されて再び粒子の吸収を受けつつ進む。従って光を吸収する部分を通過する光

射板7が密着形成されて各ウェル3が光学的に独立となっている。

第4図は、希釈液の凝集を判定する装置の一例を示すものである。

この図において、8は画像取込装置で、この画像取込装置8は、下部の白色プレート置台4と上部の光源10及びTVカメラ11とからなっており、このTVカメラ11は画像処理装置12を介してモニターテレビジョン13及びプリンター14に接続されている。そして、前記白色プレート置台4にマイクロプレート1を載置して凝集の判定をする。

次に第4図に示す装置を使用して実験した結果について説明する。

第5図から第7図は、マイクロプレート1の中央部分のウェル3aと周縁部分のウェル3bの明るさの差に関する測定結果を示す図である。

第5図は、マイクロプレート1設置個所にマイクロプレートを設置せずに各ウェルの位置に対応する位置の白色プレート置台4の明るさを測定し

た結果を示す図である。

第6図は、従来の透明であるマイクロプレート21を載置した場合の各ウェル22の明るさを測定した結果を示す図である。

第7図は、本発明の白色不透明材料で形成されたマイクロプレート1を載置した場合の各ウェル3の明るさを測定した結果を示す図である。

なお、各図中の数値は、TVカメラの明るさの最大出力を16、出力零を0とし、これを16等分したときの輝度の値である。

以上の測定結果より、従来のマイクロプレートに比較し、本発明のマイクロプレートは最も明るい部分と暗い部分の差が小さく均一な明るさとなっている。

第8図から第11図は、隣接する周囲のウェルが中央のウェルの明るさに与える影響に関する測定結果を示す図である。

第8図は、従来のマイクロプレート21を使用し、中央のウェル21及び隣接する周囲の8個のウェル21に蒸留水を入れた場合、第9図は、周

部分だけ従来のマイクロプレート21よりコントラストが強調されていることが判る。

(発明の効果)

本発明は以上のように、各ウェルを他のウェルから光学的に全く独立して構成したので、希釈液の凝集状態と明るさが完全に対応し、凝集状態の正確な判定ができる。また、光が吸収される個所とされない個所のコントラストが強調され凝集反応のパターンが極めて鮮明になるので、目視判定を容易にするとともにより一層判定精度の向上が図れる。さらに、凝集の判定因子を少なく限定できるので、機器による自動判定を可能ならしめる。

4図面の簡単な説明

第1図は本発明のマイクロタイター用マイクロプレートの一実施例を示す部分断面図、第2図及び第3図は他の実施例を示す部分断面図、第4図は凝集判定装置の概略を示す図、第5図から第7図はマイクロプレートの中央部分と周縁部分の光の測定結果を示す図、第8図から第11図は周囲のウェルの中央のウェルの明るさに与える影響の

図のウェル21に蒸留水の代わりに黒色液体を入れた場合の明るさの測定結果を示す図である。

第10図は、本発明の白色不透明材料で形成されたマイクロプレート1を使用し、第8図の場合と同様に周囲のウェル3に蒸留水を入れた場合、第11図は、第9図の場合と同様に周囲に黒色液体を入れた場合の明るさの測定結果を示す図である。

以上の測定結果より、本発明のマイクロプレート1は、従来のマイクロプレート21に比較して、周囲のウェル3の影響が少なく中央のウェルの明るさの変動が小さいものである。

第12図は、従来の透明のマイクロプレート21と本発明の白色不透明のマイクロプレート1における光の透過度と観測される光の強さの関係を示した図である。

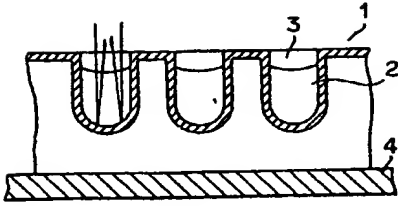
この結果より、本発明の白色不透明のマイクロプレート1のコントラストはA部分で、従来の透明のマイクロプレート21のコントラストはB部分であるので、本発明のマイクロプレート1はC

測定結果を示す図、第12図はコントラストの測定結果を示す図、第13図は従来のマイクロプレートの部分断面図そして第14図は目視判定装置を示す図である。

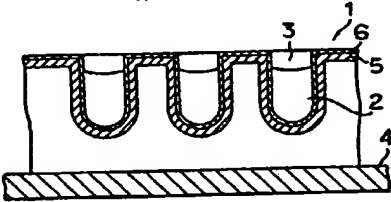
1…マイクロプレート、2…希釈液、3…ウェル、4…マイクロプレート置台、5…マイクロプレート本体、6…不透明着色物、7…反射板、8…画像取込装置。

特許出願人 富士レビオ株式会社
代理人 弁理士 田中 政 浩

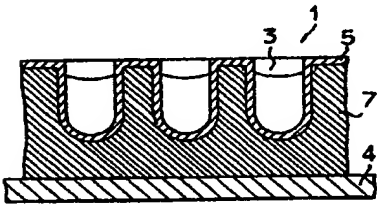
第 1 图



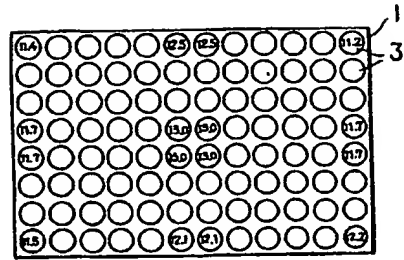
第 2 图



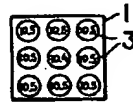
第 3 图



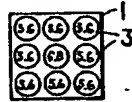
第 7 图



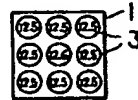
第 8 图



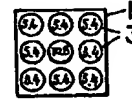
第 9 图



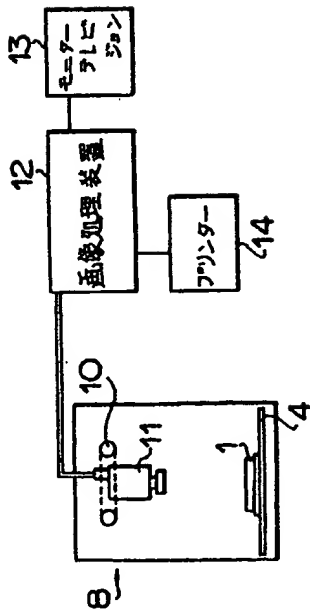
第 10 图



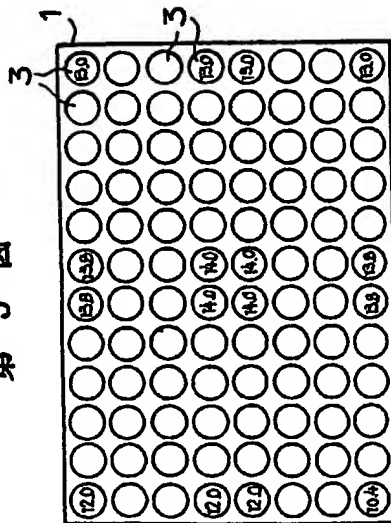
第 11 图



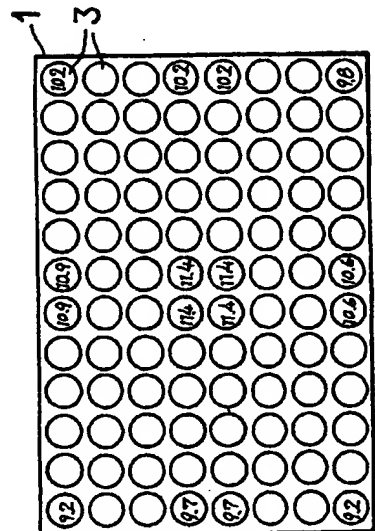
第 4 图



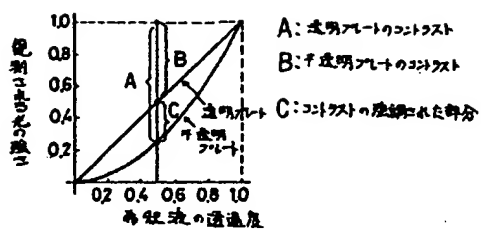
第 5 图



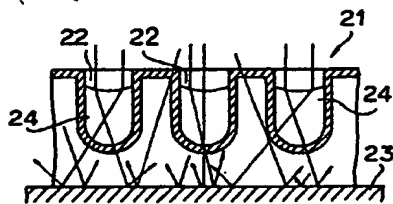
第 6 图



第 12 図



第 13 図



第 14 図

